激素水平与试管苗离体茎段嫁接体 维管束桥分化的关系

卢善发 宋艳茹

(中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要 黄瓜试管苗离体茎段嫁接体的发育受培养基中外源激素生长素(IAA)和玉米素(ZT)的调节. 通过对嫁接体发育期接合部及嫁接体各部分 IAA、玉米素及玉米素核苷(Z+ZR)的 ELISA 分析, 发现嫁接接合部维管束的再生受 IAA 和 Z+ZR 含量的共同调节; 连接接穗和砧木维管束桥的分化比维管束的网脉要求更高的 IAA 水平及 IAA/(Z+ZR) 比率; 植物激素是嫁接体发育的控制因子之一.

关键词 离体茎段嫁接 植物激素 维管束 黄瓜

嫁接是一项在果树、蔬菜、花卉生产上发挥重要作用的农业技术, 同时它又是一种科研的方法与手段. 然而其基础研究却相当薄弱, 严重地制约了嫁接技术的应用.

草本植物嫁接体发育期间, 首先由接穗和砧木除表皮以外的各部分活组织参与形成愈伤组织, 接着由这些愈伤组织细胞和砧穗原先的薄壁细胞分化出少量的管状分子和筛分子, 进而形成连接砧木和接穗的维管束桥; 最后由维管束桥中的形成层产生大量的维管分子, 直至嫁接体发育完成^[1]. 利用我们建立的黄瓜试管苗离体茎段嫁接系统, 研究发现外源 IBA 和 6-BA^[2], IAA 和 ZT^[1] 通过影响维管束桥形成时间和数目以及连接砧木和接穗的管状分子数目影响嫁接体发育. 通过改变培养基中外源激素浓度和种类, 结合组织学观察, 发现在接穗培养基中加 IAA ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 ZT ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 在砧木培养基中加 ZT ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 是黄瓜试管苗离体茎段嫁接体发育的最佳激素条件之一. 在此激素条件下, 嫁接后 3 d, 砧木和接穗间未见维管束桥, 也没有连接的管状分子. 嫁接后 6 d, 所有嫁接茎段均产生维管束桥, 桥的数目和管状分子数目显著增加, 以后未见显著变化. 当培养基中没有外源激素时, 维管束桥难以产生. 嫁接体内激素如何调控维管束分化? 此外, 成功的和不成功的嫁接皆发生维管束网脉而维管束桥分化只在成功的嫁接中发生^[3,4]. 和网脉相比, 维管束桥分化对激素水平是否有特殊要求? 国内外尚未见报道. 本文报告激素水平与黄瓜试管苗离体茎段嫁接系统中维管束桥分化关系的结果.

1 材料与方法

实验材料为黄瓜(品种为长春密刺). 种子剥去种皮后常规消毒, 接种于不含激素的 MS 培养基中. 在光强约 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 每天光照 24 h 和温度 (28 ± 2) °C 的条件下培养 5 d. 无菌条件下, 取 6~7 cm 高的植株, 切取子叶下 0.5~3.0 cm 之间的下胚轴, 从中间横切为两段后嫁接, 套上塑料管, 放入培养基中培养. 采用 MS 培养基+3% 蔗糖+1.4% 琼脂. 处理接穗培养基中加 IAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 ZT $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 砧木培养基中加 ZT $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 对照接穗和

1) 卢善发, 宋艳茹. 嫁接接合部维管组织分化的激素调节. 云南植物研究(已接收)

砧木培养基中不加激素.

以10株为1个样组,嫁接后0, 3, 6, 9, 12和15 d取样,取样方法如图1(a)所示. 重复3次. 加入液氮后将样品研碎,用80%甲醇(体积比)提取. 粗提液过C18层析柱(Octadecyl Bakerbond spe^{*})(Baker公司)后用氮气吹干,再溶于样品稀释缓冲液中. 采用中国农业大学作物化学调控教研室提供的酶联免疫试剂盒作ELISA激素测定.

2 结果

2.1 嫁接体发育期 IAA 含量的动态变化

处理在嫁接初期接合部(指嫁接面上下各0.4 cm的茎段,即图1(a) B+ C) IAA 含量随时间延长而增加. 第6天达最高值,而后下降至嫁接前水平(图1(b)). 嫁接体各部分 IAA 含量也随时间延长呈动态变化. 嫁接后3 d,接合部以上部位 IAA 含量较高. 第6天,接合部接穗和砧木一侧 IAA 含量均增加. 第9天接合部 IAA 含量下降,接合部以下部位 IAA 含量略有增加(图1(c)). 对照随时间延长接合部 IAA 含量逐渐增加(图1(b)). 嫁接体各部分 IAA 含量未见显著性变化(图1(c)). 可见嫁接初期高水平的生长素对维管束桥分化是必须的. 嫁接后期,即使生长素水平较高,维管束桥也难以形成.

图1 激素测定取样示意图(a)、黄瓜试管苗离体茎段嫁接体发育期间接合部(b)和嫁接体各部分(c, d)激素含量的变化
T——处理, CK——对照

2.2 嫁接体发育期 Z+ ZR 含量的动态变化

与 IAA 含量的动态变化不同, 处理和对照接合部 Z+ ZR 含量均在初期略为下降, 而后逐渐增加. 处理 Z+ ZR 含量较对照低, 可能是大量利用 Z+ ZR 及其向顶运输所致. 第15天, 对照 Z+ ZR 含量又下降, 可能是 Z+ ZR 合成能力减弱及 Z+ ZR 在接合部降解所致(图1(b)).

从嫁接体各部分 Z+ ZR 含量的变化来看, 处理接合部以下部位嫁接后逐渐增加. 接合部砧木一侧第 6 天较第 3 天和第 9 天低, 可能是第 6 天接合部利用大量 Z+ ZR 并有一部分被运输到接穗一侧所致. 第 6 天, 接穗一侧 Z+ ZR 含量与第 3 天类似, 比第 9 天低(图 1(d)). 嫁接第 6 天, 接合部接穗一侧也可能大量利用 Z+ ZR, 但从砧木一侧运输的 Z+ ZR 维持其一定水平. 对照中, 随时间延长, 接穗一侧含量仅略有增加, 砧木一侧却显著增加(图 1(d)), 可能是砧木利用 Z+ ZR 较处理少及其向顶运输在嫁接面受阻所致. 可见维管束桥形成时需要利用大量 Z+ ZR. 嫁接体发育后期, 随着利用的减少含量又逐渐增加. 运输受阻, 接穗一侧 Z+ ZR 含量不足, 是对照中难以形成维管束桥的原因之一.

2.3 嫁接体发育期 IAA 和 Z+ ZR 的协同作用

计算和比较嫁接体发育期 IAA/(Z+ ZR) 比值变化, 发现处理在嫁接前期升高, 第 6 天达最高值, 而后逐渐下降, 低于嫁接前水平(图 2(a)). 接合部接穗一侧和砧木一侧的变化趋势与此相同, 其中砧木一侧的变化较接穗一侧明显(图 2(b)). 对照在嫁接后 3 d 略有升高, 而后逐渐下降, 第 15 天又升高(图 2(a)), 这可能与 Z+ ZR 含量降低有关. 接合部接穗一侧在嫁接前 9 d, 比值未见明显变化, 接合部砧木一侧及其以下部位的变化一致, 随时间延长而下降(图 2(b)). 可见维管束桥形成时需要较高 IAA/(Z+ ZR) 比值.

图2 黄瓜试管苗离体茎段嫁接体发育期间接合部和嫁接体各部分 IAA/(Z+ ZR) 比值的变化
A, B, C, D, T 和 CK 同图 1

3 讨论

植物体内生长素主要在茎尖和幼嫩的叶片合成, 向基部运输, 影响细胞生长和分化. 如将带几片叶原基的茎尖嫁接到愈伤组织上, 可导致愈伤组织内形成韧皮部和木质部^[5]. 实验表明, 愈伤木质部分化只在高生长素水平时发生, 而愈伤韧皮部在高与低生长素水平时皆可发生^[6]. 本实验中, 不加外源激素的对照嫁接后随时间延长 IAA 含量逐渐增加, 满足了网联形成的需要, 而维管束桥的形成可能需要更高的 IAA 水平及更高的 IAA/(Z+ ZR) 比值, 因此维管束桥只在处理中产生.

植物体内细胞分裂素主要在根尖合成, 向顶运输. Aloni^[7]认为细胞分裂素可增加植物对生长素的敏感性, 在生长素存在时刺激早期维管束分化, 后期维管束分化可在缺乏细胞分裂素时发生. 细胞分裂素和生长素协同控制导管和筛管再生, 若缺乏生长素、仅有细胞分裂素则不能诱导维管束分化. 本实验结果与此相符, 但维管束桥形成过程中需要利用较网联形成时更多的 Z+ ZR.

嫁接体发育包括初始粘连、愈伤组织产生、次生胞间连丝形成及维管束桥分化等几方面。后两者只在成功的嫁接中发生,而初始粘连和愈伤组织产生在成功的和不成功的嫁接中皆发生。嫁接接合部维管束桥主要起源于愈伤组织细胞,由次生胞间连丝在愈伤组织细胞之间建立接穗和砧木共质体连通后产生;维管束间的网联起源于薄壁细胞的再分化^[1],在已建立共质体连通的两个维管束之间形成,不必形成次生胞间连丝。这可能是维管束桥形成较网联产生需要更高的 IAA 水平、更高的 IAA/(Z+ZR) 比值并利用大量 IAA 和 Z+ZR 的原因。

由于维管组织分化是一个动态的复杂过程,嫁接体内细胞分化也不同步,无法精确检测细胞分化各阶段的激素含量。为进一步阐明维管组织分化机理,我们正开展激素的免疫组织化学定位研究,预期将得到更为理想的结果。

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号:39700011)和中国科学院院长基金资助项目。

参 考 文 献

- 1 Kollmann R, Schulz A. Phloem regeneration. In: Behnke H D, Lüttge U, Esser K, et al eds. Progress in Botany, vol 54. Berlin: Springer Verlag Heidelberg, 1993. 63~ 78
- 2 卢善发,唐定台,宋经元,等. 利用植物激素调控嫁接形成的初步研究. 植物学报, 1996, 38: 307~ 311
- 3 向国胜,邵小明,杨世杰. 番茄/番茄和莧菜/番茄嫁接组织形成过程的细胞学观察. 北京农业大学学报, 1992, 18: 267~ 273
- 4 Wang Y, Kollmann R. Vascular differentiation in the graft union of *in-vitro* grafts with different compatibility —structural and functional aspects. J Plant Physiol, 1996, 147: 521~ 533
- 5 Wetmore R H, Reir J P. Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperms. Amer J Bot, 1963, 50: 418~ 430
- 6 Aloni R. Role of auxin and sucrose in the differentiation of sieve and tracheary elements in plant tissue cultures. Planta, 1980, 150: 255~ 263
- 7 Aloni R. The induction of vascular tissues by auxin and cytokinin. In: Davies P J ed. Plant Hormones. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. 531~ 546

(1999-01-19 收稿, 1999-04-16 收修改稿)

密执安盆地志留系碳酸盐岩中高含量的萜烯 和甲基萜烯化合物

张立平 黄第藩 廖志勤

(石油勘探开发科学研究院地质研究所, 北京 100083)

摘要 从密执安盆地志留系碳酸盐岩样品的芳烃馏分中,经 GC-MS 分析检测出了萜烯和甲基萜烯化合物。前泥盆系碳酸盐岩地层中萜烯化合物的存在表明该类化合物不仅仅是陆生高等植物的生物标志物,也可以来自某些低等生物的贡献,特别是志留系地层中甲基萜烯化合物的检出可能还属首次。

关键词 萜烯 甲基萜烯 碳酸盐岩 密执安盆地

萜烯是菲系列化合物的一种,即 1-甲基-7-异丙基菲,它具有菲的基本骨架结构,广泛分布

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb1999-44-13-1422>